OMAGGIO

R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
15 DEC. 1933

78

O. VERONA e M. VALLEGGI

# BLASTOMICETI DELLE FRUTTA

Estratto dal *Bollettino del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa*
Volume IX - Anno 1933.

PISA, STAB. TIP. G. CURSI & FIGLI
1933 - XI

O. VERONA e M. VALLEGGI

# BLASTOMICETI DELLE FRUTTA

O. VERONA e M. VALLEGGI

# BLASTOMICETI DELLE FRUTTA

Sebbene abbia scarsa importanza, specialmente da noi, la vinificazione dei succhi di frutti diversi dall'uva, non sono mancate segnalazioni relative alla presenza, sui frutti stessi, di lieviti capaci di indurre, più o meno, fermentazione alcoolica.

Sopratutto le ricerche sono state svolte sul sidro di mele, dal quale KAYSER (1) avrebbe isolato *Sacch. apiculatus* e altri lieviti *(Sacch. mali – Duclauxi* e *Sacch. mali – Risleri)*; mentre MUELLER – THURGAU e OSTERWALDER (2) avrebbero isolato forme di *Sacch. ellipsoideus* e *Sacch. Pasteurianus*. BERLESE (3), particolarmente studiando i lieviti presenti in numerosi frutti, avrebbe rinvenuto forme apiculate in fragole, more, fichi, aranci, raramente su pesche, ciliegie, mele, fichi, nespole; e forme pastoriane su nespole, more, fragole, ciliegie, prugne. Lo studio di BERLESE, però, limitandosi alla semplice segnalazione delle forme non ha valore sistematico in quanto, delle forme stesse, non furono indagati e precisati i caratteri colturali e fisiologici.

Altre segnalazioni relative alla presenza di blastomiceti nei frutti, diversi da quelli ormai abbastanza ben noti dell'uva, sono quelle di RODIO (4) che isolò *Zygosacch. Cavarae* da frutti di dattero; di PEROTTI e RIVERA (5) che descrissero *Sacch. musae* isolato da mosto di banane; di ULPIANI e SARCOLI (6) e CIFERRI (7) che rispettivamente descrissero, su fico di India, *Sacch. opuntiae* e *Zy-*

(1) – KAISER – Ann. de l'Inst. Pasteur, 1890.

(2) – MUELLER – THURGAU e OSTERWALDER – Berichte der schweiz. Versuchsanstalt fur Obst – Wein – u. Gartenbau, in Wadenswill, 1905.

(3) – BERLESE – Staz. Sper. Agr. Ital., 1897.

(4) – G. RODIO – Bull. dell'Orto Bot. di Napoli Tomo VII.

(5) – R. PEROTTI e V. RIVERA – Staz. Sper. Agr. Ital., 1917.

(6) – C. ULPIANI e SARCOLI – Gazz. Chim. Ital., 1902.

(7) – R. CIFERRI – Staz. Sper. Agr. Ital., 1922.

*gosacch. opuntiae*; della CHARBOSKI (1) che rinvenne su fico *Torulopsis botryoidea* (em. Cif.) e *Zygosacch. ficicola*; di LUDWIG (2) che descrisse *Sacch. ribis* e *Torula ribis;* di uno di noi che descrisse *Sacch. diospiri* (3); di altri che sarebbe eccessivo ricordare.

*
* *

Per il momento abbiamo creduto opportuno di limitare le nostre indagini ai lieviti presenti su ciliegie, susine, pesche, aranci, datteri, kaki e su frutti di *Zizyphus sativa* Gaert. (giuggiolo).

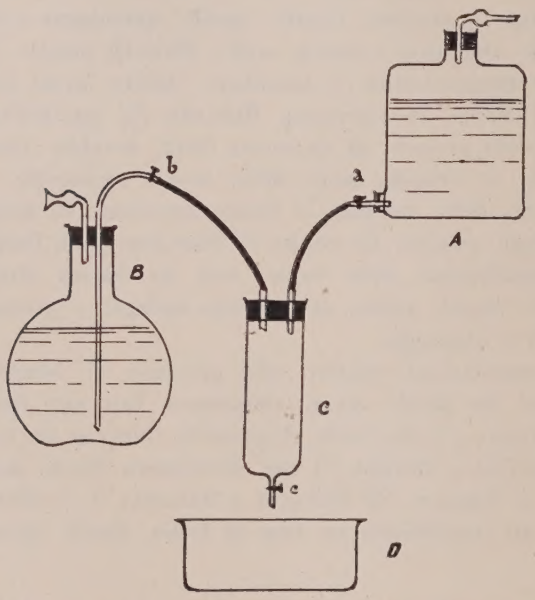



Fig. 1 – Schema del dispositivo atto alla disinfezione di organi vegetali o loro parti

(1) – G. CHARBOSKI – Thèse de l'Univ. de Gènève, 1918.
(2) – D. E. LUDWIG – Bull. Soc. Bot. de Gènève, 1918.
(3) – O. VERONA – Boll. Soc. Int. di Microbiologia, 1931 e Boll. R. Ist. Sup. Agr. di Pisa, 1931.

L'isolamento fu relativamente facile; e all'uopo abbiamo fatto uso di colture a piatto all'agar – mosto allestite innestando aliquote di mosto in fermentazione e opportunamente diluito in acqua sterile. Per evitare inquinamenti di forme banali sempre rinvenibili sulla superficie di organi vegetali, non solo ci procurammo frutti quanto più possibile sani, ma inoltre, prima di ammostarli, essi si lavarono ripetutamente con soluzione di sublimato e con acqua sterile usufruendo di un semplice dispositivo – che quì prendiamo occasione di descrivere – adatto alla disinfezione di qualsiasi organo o parte di organo vegetale.

Il dispositivo in parola è costituito da una bottiglia di Mariotte *(A)* contenente sublimato corrosivo al 2%; da un grosso pallone *(B)* contenente acqua sterile; da un terzo recipiente *(C)*, di norma a forma cilindrica, dove viene messo il materiale da disinfettare: la bacinella *D* raccoglie la soluzione disinfettante e l'acqua di lavaggio.

Il funzionamento è semplice: l'acqua contenuta in *B* viene fatta bollire per 10 – 15′; appena fredda, il recipiente *B* e il recipiente *A* si collegano con *C* a mezzo di tubi di gomma. Delle chiavette *a*, *b*, *c*, chiuse, si apre *a* in modo che il sublimato scenda in *C* e risalga fino in *b* sterilizzando il tubo: il materiale in esame si tiene in contatto con la soluzione di sublimato per 20 – 25′; indi si chiude *a* e si aprono *b* e *c* in modo che l'acqua sterile venga sifonata da *B* a *C* con conseguente lavaggio del materiale.

*
* *

Ciò premesso passiamo alla descrizione delle specie isolate e delle quali sono consegnati i caratteri morfologici, fisiologici e colturali.

1 – ORIGINE: da frutti di *Zizyphus sativa* Gaert.

## Caratteri colturali

*Colonie su agar – mosto e agar – fagiuoli:* superficiali, piccole, isolate, opache, bianche, poltacee, circolari o subrotonde, piatte, ad orlo continuo, struttura finemente granulosa.

*Colonie su gelatina:* caratteri analoghi ai precedenti; sviluppo più lento.

*Strisci su agar – mosto e agar – fagiuoli:* patina continua, opaca, bianca, poltacea, liscia, umida, non scolante.

*Strisci su agar – peptone e agar – Gorodkowa:* patina con caratteri analoghi ai precedenti; in agar – Gorodkowa sviluppo più limitato.

*Colture in brodo fagiuoli saccarato:* sviluppo abbondante sotto forma d'intorbidamento; velo superficiale non resistente; sedimento granuloso.

*Colture in brodo di carne:* come sopra.

*Colture in gelatina per infissione:* sviluppo limitato in superficie sotto forma di colonia bianca, poltacea, con margini frastagliati; leggero sviluppo lungo il fittone con ramificazioni laterali; assenza di fluidificazione, notevole infossamento.

*Colture in latte:* sviluppo abbondante, coagulazione; il coagolo non viene ridisciolto.

*Colture su patata e carota:* sviluppo mediocre di patina avente i caratteri degli strisci.

*Colonie giganti* su gelatina nutritiva, gelatina di mosto e agar – fagiuoli: sviluppo limitato a non oltre cm. 1,5; si presentano piatte, leggermente più dense al centro, con orlo frastagliato.

## Caratteri morfologici.

Su agar – fagiuoli e agar – mosto, cellule isolate, ovali, raramente tondeggianti, per lo più ellittiche, con plasma omogeneo o finemente granuloso, provvisto di vacuolo: non infrequenti cellule durature con membrana più spessa.

I caratteri biometrici, dedotti da 200 misurazioni, risultarono essere:

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| larghezza | μ: | 1,65 | 1,98 | 2,20 | 2,47 | | |
| | fr. | 10 | *90* | 62 | 38 | | |
| lunghezza | μ: | 4,62 | 4,95 | 5,28 | 5,78 | 6,10 | 6,60 |
| | fr. | 6 | 19 | 60 | *84* | 22 | 9 |

Misurerebbe quindi μ 1,65 – 2,47 × 4,62 – 6,60 e, con maggiore frequenza, μ 1,98 × 5,78 (1).

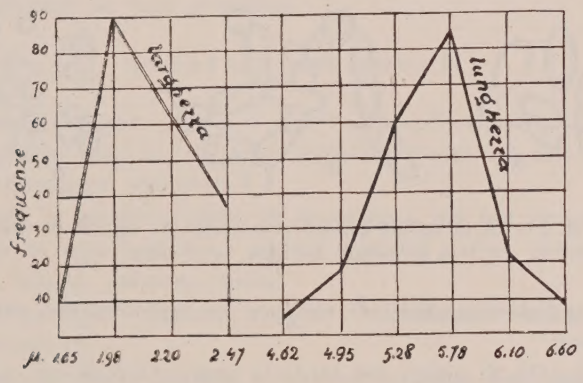



Fig. 2 – Diagramma delle deviazioni biometriche della forma I.

Tali dimensioni non cambiano notevolmente con l'invecchiarsi delle colture; invece i vacuoli ingrandiscono sensibilmente. Non si ha traccia di elementi pseudomicelici.

Così in agar – Gorodkowa e in agar – peptone.

(1) Applicando nei computi biometrici la formula dei minimi quadrati è reso possibile, a chi volesse, calcolare oltre alla media aritmetica *Zn*, i coefficienti seguenti:

$$\sigma, \text{ maggiore deviazione} = \sqrt{\frac{\Sigma\,(Zn-a)^2}{n-1}} \pm 0{,}6745\,\frac{\sigma}{\sqrt{2n}}$$

$$C.\,V., \text{ coeff. di variabilità} = \frac{\sigma \cdot 100}{Zn} \pm 0{,}6745\,\frac{C.\,V.}{\sqrt{2n}}\ \%$$

$$\text{maggior probabile errore} = \pm\,0{,}6745\,\sqrt{\frac{\Sigma\,(Zn-a)^2}{n\,(n-1)}}$$

$$\Delta\, z, \text{ errore medio della media} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

$$Em, \text{ errore medio} = \frac{\text{maggior probabile errore} \cdot 100}{Zn}\ \%$$

$$Zn, \text{ media aritmetica} = \frac{\Sigma\,a}{n} \pm 0{,}6745\,\Delta$$

(*n*, è il n° delle osservazioni; *a*, il valore di ogni singola osservazione).

Le cellule dei veli, invece, sono notevolmente irregolari: di solito allungate, riunite in colonie più o meno ramificate.

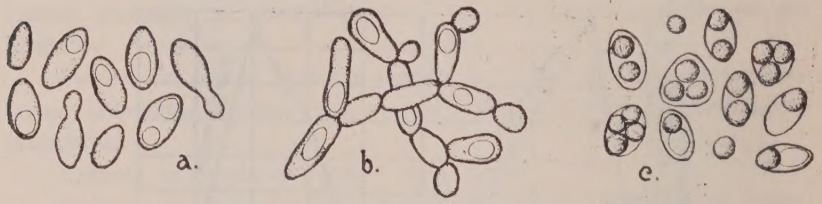



Fig. 3 – In *a*, cellule giovani provenienti da colture in agar; in *b*, cellule del velo; in *c*, aschi.

In condizioni normali di sviluppo la riproduzione avviene per gemmazione.

Su blocchi di gesso, più tardi in agar – Gorodkowa, si formano aschi partenogenetici contenenti 1 – 4 spore rotonde, con pareti lisce, misuranti μ 1,8 – 4 di diametro.

## Caratteri biochimici

Le prove di fermentazione furono eseguite a mezzo dei tubi di Smith contenenti infuso di fagiuoli addizionato di zuccheri. La forma dimostrò di fermentare prontamente maltosio e lattosio, indi levulosio e glucosio, più tardi galattosio, raffinosio, arabinosio, assai lentamente mannosio. Non inverte saccarosio.

Assimila glucosio, levulosio, saccarosio, lattosio, galattosio, mannosio, raffinosio, arabinosio; poco la mannite, non la glicerina; assimila l'azoto dei peptoni, poco l'amidico, non quello dei sali ammoniacali, dei nitrati, dei nitriti.

## Riferimento sistematico

Dall'esame dei caratteri morfologici e colturali ci sembra che lo stipite in parola possa avvicinarsi a *Sacch. ellipsoideus* Hansen (*Sacch. cerevisiae v. ellipsoideus* (Hansen) Dekker) sebbene da questo si discosti per la mancata fermentazione del saccarosio (1). Anzi

(1) - N. M. Stelling – Dekker, *Die sporogenen Hefen*, Amsterdam, 1931.

sopravalutando questo ultimo carattere, potrebbe essere giustificata la creazione di una nuova specie.

2 – ORIGINE: da frutti di Ciliegio.

## Caratteri colturali

*Colonie su agar – mosto e agar – fagiuoli:* superficiali, piccole, isolate, opache, bianche, poltacee, circolari, piatte, ad orlo continuo, struttura finemente granulosa.

*Colonie in gelatina:* come le precedenti, ma più piccole.

*Strisci su agar – mosto e agar – fagiuoli*: patina continua, estesa, opaca, bianca, poltacea, liscia.

*Strisci su agar – peptone e agar – Gorodkowa*: caratteri analoghi ai precedenti.

*Colture in brodo fagiuoli saccarato:* sviluppo con leggero intorbidamento del liquido; sedimento non abbondante, sottile velo in superficie.

*Colture in brodo carne:* come sopra.

*Infissioni in gelatina*: sviluppo in superficie, scarso in profondità. Assenza di fluidificazione.

*Colture su patata e su carota:* sviluppo discreto di patina avente i caratteri di cui agli strisci.

*Colture in latte:* sviluppo discreto, coagulazione; il coagulo non viene ulteriormente disciolto.

*Colonie giganti* su gelatina e su agar - mosto: circolari, lucenti, molto grandi, opache, bianche, poltacee, poco rilevate, a struttura concentrica, con margini irregolarmente lobati.

## Caratteri morfologici

Su agar – fagiuoli e agar – mosto, cellule isolate, rotonde o subrotonde: plasma omogeneo o raramente granuloso, con gocce di grasso e grande vacuolo per lo più centrale.

I caratteri relativi alle dimensioni, su 200 misure, furono:

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| diametro | μ: | 1,65 | 2,47 | 2,97 | 3,30 | 3,65 | 4,12 | 4,95 | 5,78 |
| | fr. | 9 | 15 | 25 | 59 | 30 | 20 | 16 | 26 |

Le dimensioni oscillano molto entro limiti piuttosto considerevoli: eliminando le estreme, le dimensioni medie possono fissarsi entro i μ 2,47 – 4,95 con prevalenza a raggiungere μ 3,30. Microforme, di μ 1,65, non sono eccessivamente frequenti: piuttosto invece lo sono le cellule grandi che raggiungono i μ 6 di diametro.

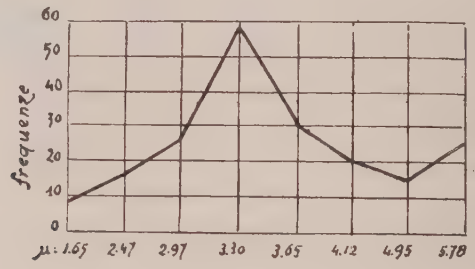



Fig. 4 – Diagramma delle deviazioni biometriche della forma II.

Non notevoli variazioni si hanno nelle vecchie colture, nè negli altri substrati solidi se si eccettua la gelatina: quivi infatti le maggiori frequenze si riscontrano entro limiti compresi tra i μ 4,12 e 5,72.

Nei brodi le cellule del fondo si presentano identiche; le cellule del velo di solito un poco più allungate.

Rari ammassi di 3 - 5 cellule si rinvengono nelle vecchie colture, ma non si ha presenza di forme pseudomiceliche.

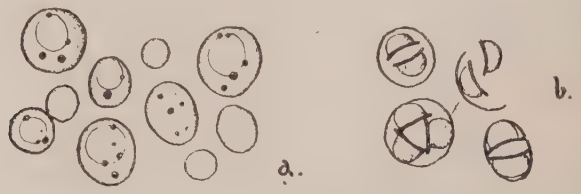



Fig. 5 – In *a*, cellule giovani provenienti da colture in agar; in *b*, aschi e spore.

In ogni substrato, dopo pochi giorni di coltura a 24° C., si formano numerosi aschi, la cui membrana si rompe facilmente. Le

spore, aventi un diametro di μ 2 – 3, si formano 2 – 4 per asco: sono emisferiche limitate da una superficie piana rilevata come tipicamente è noto per il gen. *Willia*. Non sono stati notati fenomeni copulativi.

## Caratteri biochimici

Studiato il comportamento verso gli zuccheri, fu accertata l'inversione del saccarosio e la fermentazione, piuttosto rapida, del glucosio e levulosio e anche del maltosio e raffinosio; più lenta del lattosio, galattosio, arabinosio, mannosio.

La forma dimostrò di assimilare glucosio, levulosio, saccarosio, lattosio, galattosio, mannosio, raffinosio, maltosio; non mannite, non glicerina. Dei composti azotati dimostrò utilizzare l'azoto dei peptoni, leggermente quello amidico, scarsamente nitrati e sali ammonici.

## Riferimento sistematico

Le modalità di sporulazione e la tipica forma delle spore fanno rientrare la presente specie entro il genere *Willia* sensu Hansen o, meglio, entro il genere *Hansenula* (Hansen) Sydow ([1]) e di cui già si conoscono, ormai, diverse specie.

La più nota è *H. anomala*, (*Sacch. anomalus*) ([2]) di Hansen rinvenibile tra gli agenti della fioretta, della fermentazione del "saké„ – dove alcune varietà assumerebbero una certa importanza ([3]) – e nel terreno ([4]).

Di *H. anomala* sono state descritte diverse varietà: la var. *belgica* da Lindner ([5]) e le var. I, II, III, IV, da Steuber ([6]).

([1]) – Sydow – (Ann. Myc. vol. 17, p. 44, 1919) propose di sostituire il nome *Willia* con *Hansenula* essendo già noto un altro genere *Willia* Müll. appartenente alla fam. delle *Pottiaceae*.

([2]) – Secondo alcuni, *W. anomala*, sarebbe identificabile con *Endomyces fibuliger* (v. W. Dombrowski, C. R. des trav. du Laborat. de Carlsberg, **7** *297*, 1909.)

([3]) – I. Takapashi – Journ. Tokio Chem. Soc. **31**, 1910. (Ref. in C. f. B. II Abt., **29**, *280*, 1911.) – e Teizo – Journ. of. Agr. Chem. Soc. of Japan, **1**, 1925.

([4]) – L. Starkey e A. J. Henrici – Soil Scienze, *33* – 47, 1927.

([5]) – P. Lindner – *Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben* Paul Parey, Berlino, 1909.

([6]) – L. Steuber – Zeitsch. f. d. ges. Brau. v. XXIII, 1900.

Naegeli, ([1]) sotto il nome di *Sacch. sphaericus* (sin. *Sacch. acetaethylicus* Beijerinck ([2])) descrisse tre forme riferibili al gen. *Hansenula*.

Kloecker ([3]) descrisse *Hansenula saturnus* (*Sacch. saturnus* Kl.; = *Williopsis saturnus* (Kl.) Zender ([4])).

Berkhout ([5]) riporta al genere *Hansenula* una forma isolata da Beijerinck sotto il nome di *Monilia productiva*.

Groenewege ([6]) isolò *Hansenula javanica*; Weber ([7]) *Hansenula odessa* e *H. Schneggii*; Zikes ([8]) *H. Wichmanni*; e recentemente Lodder ([9]) descrisse *H. Ciferri*.

La Stelling - Dekker, nella sua Memoria, ([10]) tralasciando di considerare le varietà di Steuber, precisa i caratteri delle altre riportandole alle seguenti specie e varietà:

1 *Hansenula anomala* (Hansen) Sydow
- a) – – var. *sphaerica* (Naegeli) Dekker
- b) – – var. *productiva* (Beijerinck) Dekker
- c) – – var. *longa* Dekker
- d) – – var. *robusta* Dekker

2 – *saturnus* (Klöcker) Sydow
3 – *javanica* (Groenewege) Dekker
4 – *Schneggii* Weber) Dekker
5 – *suaveolens* (Klöecker) Dekker

Include, come vedesi, *H. suaveolens* descritta da Klöcker come *Pichia* ([11]) e trascura *H. Wichmanni*.

([1]) – O. Naegeli – Theorie der Gährung. Monaco, 1879.
([2]) – W. Beijerinck – C. f. B. v. II, 1892.
([3]) – A. Kloecker – C. R. des trav. du Lab. de Carlsberg. v. VI, 1903.
([4]) – Zender – Bull. Soc. Bot. de Gènève, 1925.
([5]) – M. Berkhout – Diss. Utrecht.; 1923.
([6]) – J. Groenewege – Meded. Alg. Proefst. v. d. Landbouw in Ned. – Indie. n. 9, 1920.
([7]) – U. Weber – Biochem. Zeitsch , 1922.
([8]) – H. Zikes – C. f. B., II Abt., **16**, *97*, 1906.
([9]) – J. Lodder – C. f. B., II Abt., **86**, *227*, 1932.
([10]) – M. Stelling-Dekker – op. cit.
([11]) – A. Kloecker C. f. B., II Abt., **35**, *372*, 1912.

Dal confronto delle descrizioni date dagli Autori (1) e dalla stessa DEKKER (2) ci è apparso che la nostra specie si avvicini più che alla altre (dalle quali si allontanerebbe per i caratteri morfologici e biochimici) ad *H. anomala* o a qualche sua varietà. Ma da queste anche crediamo opportuno tenerla distinta essendo capace di fermentare, sebbene debolmente, il lattosio, come del resto ogni altro zucchero cimentato.

Per questa sua attitudine noi proponiamo di distinguerla con il nome di *Hansenula fermentans*, n. sp.

**3. - ORIGINE: da frutti di Dattero.**

### Caratteri colturali

Il ceppo in parola presenta caratteri colturali identici a quelli già fissati per il n° 2.

### Caratteri morfologici

Anche i caratteri morfologici – come quelli biometrici – richiamano nel complesso quelli in precedenza descritti per il ceppo n° 2.

### Caratteri biochimici

Come lo stipite n° 2.

### Riferimento sistematico

Trattasi, evidentemente, della specie che abbiano descritta come *Hansenula fermentans*, n. sp.

**4 - ORIGINE: da frutti di Pesco.**

### Caratteri colturali

*Colonie su agar-mosto e su agar-fagiuoli:* superficiali, piccole,

(1) - Oltre alle citate Note veggasi:
H. ZIKES - C. f. B., II Abt., **49**, *353*, 1919.
- C. f. B., II Abt., **31**, *527*, 1911.
A. GUILLIERMOND - *Les Levures*, Paris, 1912.
A. GUILLIERMOND e F. W. TANNER - *The Yeasts*, N. Y. e London, 1919.
G. DE' ROSSI - *Microbiologia Agraria e Tecnica*, Torino, 1927.

(2) - N. M. STELLING-DEKKER - op. cit.

isolate, opache, bianche, poltacee, circolari, piatte, con orlo continuo, struttura finemente granulosa.

*Colonie su gelatina :* più piccole delle precedenti ma con caratteri analoghi.

*Strisci su agar-mosto e agar-fagiuoli :* patina poco estesa, continua, opaca, bianca, poltacea, liscia,

*Strisci su agar-peptone e agar-Gorodkowa :* sviluppo di patina pochissimo estesa con i caratteri dei precedenti.

*Colture in brodo fagiuoli saccarato :* leggero intorbidamento; sedimento non abbondante; leggerissima coperta.

*Infissioni in gelatina:* scarso sviluppo in superficie. Non ha luogo fluidificazione.

*Colture su patata e carota :* sviluppo mediocre di patine aventi caratteri simili a quelle degli strisci.

*Colture in latte :* il latte non viene modificato.

*Colonie giganti* su gelatina e agar-mosto: non molto grandi, biancastre, opache, piatte, a struttura granulare, contorno lobato.

## Caratteri morfologici

Su agar-fagiuoli e agar-mosto cellule isolate o gemmanti, limoniformi o ellittiche, con plasma omogeneo talvolta provvisto di vacuolo.

I caratteri biometrici, su 200 misurazioni eseguite, risultarono essere :

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| larghezza | μ : | 2,47 | 2,97 | 3,30 | 3,65 | |
| | fr. : | 18 | 35 | *96* | 51 | |
| lunghezza | μ : | 4,95 | 5,77 | 6,60 | 7,42 | 8,30 |
| | fr. : | 15 | 30 | *62* | 55 | 38 |

Misura quindi, in media, μ 2,47–3,65 × 4,95-8,30; con maggiore frequenza, μ 3,30 × 6,60.

Non notevoli variazioni si hanno nelle vecchie colture, nè negli altri substrati solidi.

Nei veli delle colture liquide le cellule sono un poco più allungate, talvolta riunite. Mancano ovunque formazioni pseudomiceliche.

Il potere sporigeno fu ricercato in colture vecchissime di oltre tre mesi, in agar-Gorodkowa e su blocchetti di gesso.

Negli agar (come in gelatina) non fu mai notato alcun processo di sporulazione; neppure nell' agar-Gorodkowa, sebbene quivi il contenuto plasmatico delle cellule non si mantenesse omogeneo ma andasse invece modificandosi. Nei blocchetti di gesso umettati di brodo

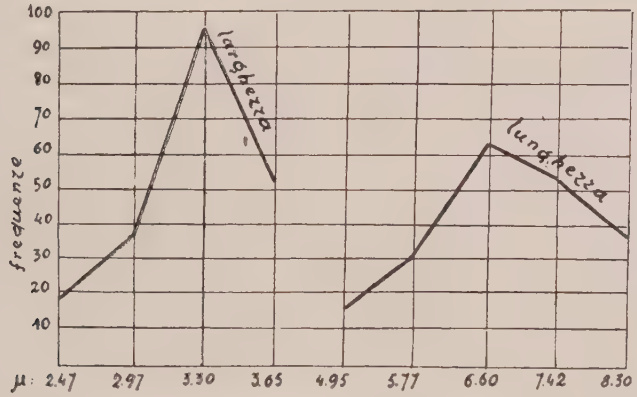



Fig. 6 – Diagramma delle deviazioni biometriche della forma IV.

nutritivo la formazione degli aschi si rese relativamente facile, sebbene lenta. Essi si presentano ancora limoniformi, ma spesse volte ellittici, e contengono una o due spore rotonde, a parete liscia, di μ 1,6–1,8 di diametro.

Fig. 7 – Cellule vegetative e aschi

## Caratteri biochimici

Lo stipite in parola si dimostrò capace di invertire saccarosio, sebbene lentamente; e di fermentare glucosio, levulosio, maltosio, lattosio, scarsamente galattosio, raffinosio, mannosio, arabinosio.

Assimila tutti i precedenti idrati di carbonio, scarsamente la mannite, non la glicerina; utilizza l'azoto proteico, non l'amidico, nè quello dei sali ammonici e nitrati.

## Riferimento sistematico

Sopra i lieviti di forma apiculata molto è stato scritto dopo la prima segnalazione di Reess [1] e di Hansen, i quali mai riuscirono ad intravedere alcuna formazione di spore.

Engel [2], successivamente, sostenne di avere osservato nei fermenti apiculati un nuovo tipo di fruttificazione simile a *Proteomyces*, e raggruppò gli apiculati nel genere *Carpozyma*. [3] Ciò non di meno Pasteur usò ancora la denominazione di *Sacch. apiculatus* proposta da Reess.

Hansen confermò ancora più tardi di non avere mai potuto osservare formazione di spore [4]; e nel suo quadro sistematico [5] dei Saccaromiceti non fa naturalmente menzione di *Sacch. apiculatus* che van Laer già denominò *Pseudosaccharomyces* [6], nome accettato da Klöcker.

Invero, Beijerinck, [7] dichiarò di avere rinvenuto spore in lieviti apiculati, sebbene raramente; mentre più tardi Lindner [8] ne dimostrò l'esistenza, proponendo per gli apiculati sporigeni il nome di *Hansenia*, nonostante questo nome fosse già stato usato da Zopf [9] per altro genere di funghi.

Qualche Autore [10] perciò descrisse il genere *Hansenia* di Lind-

(1) N. Reess – *Botanische Untersuchungen über die Alkohol-gärpilze*, Leipzig.

(2) E. Engel – C. R. de l'Ac. de Sc., v. 74, 1872. – *Les fermentes alcooliques: études morphologiques*, Paris, 1876.

(3) – L. Pasteur – *Étude sur la bière*, Paris, 1876.

(4) – E. Hansen – C. R. du Labor. de Carlsberg, v. I; 1881.

(5) — C. f. B. II Abt. 16. 1904.

(6) – H. V. Laer – Bull. d l'assoc. belge de Chemist. 1893.

(7) – W. Beijerinck – C. f. B., II Abt. **16**, 1894.

(8) – P. Lindner – Wochenschr. f. Brauerei, **20**, 1903. – Jahresber. d. Versuchs- u. Lehranst. f. Brauerei i. Berlin. **7**, 1904.

(9) – W. Zopf – Ztschr. f. Naturw., **56**, 1883.

(10) – F. G. Kohl – *Die Hefepilze* – Leipzig, 1908. – A. Guilliermond – *Les Levures* – Paris, 1912. – A. Guilliermond e F. W. Tanner – *The Yeasts* – N. Y. e London, 1919.

NER come genere appartenente alla famiglia dei Saccaromiceti mentre altri lo pose tra i generi dubbi (1).

ZIKES (2) ammise che *Hansenia apiculata* fosse una specie differente da *Sacch. apiculatus* e propose di denominare le due specie rispettivamente con i nomi di *Hanseniaspora mucroniata* (f. sporigena) e di *Hansenia mucroniata* (f. asporigena).

KLOECKER, che si occupò in più tempi, dei lieviti apiculati (3) trovò che la maggior parte delle specie sono asporigene ma che una formava spore. Le specie asporigene le comprese nel genere *Pseudosaccharomyces*, mentre l'altra la riferì al genere *Hanseniospora* e fu distinta da *H. apiculata* (LINDNER) ZIKES con il nome di *Hanseniospora Valbyensis*. La differenza tra le due specie risiederebbe nel fatto che, mentre l'*Hanseniospora* di LINDNER forma una sola spora rotondeggiante, l'*Hanseniospora* di KLOECKER darebbe origine ad aschi bisporei e le spore avrebbero forma di cappello. Anche WILLE (4) trovò due fermenti apiculati che descrisse come *Pseudosaccharomyces* notando anzi che tali forme asporigene avevano tanta somiglianza con il genere *Eutorula* da lui proposto che dovevano essere considerati tali.

JANKE (5), riprendendo in esame la nomenclatura degli apiculati, fece notare che il nome di *Pseudosaccharomyces* era già stato proposto da BRIOSI e FARNETI nel 1906 per indicare un altro gruppo di funghi e quindi proponeva il nuovo nome di *Kloeckera*.

KUFFERATH (6) ritiene senz'altro che i fermenti apiculati siano tutti sporigeni e distingue secondo il numero delle spore contenute nell'asco due sottogeneri: comprende in *Pseudosaccharomyces* KLÖCKER specie con aschi unisporei, e in *Hanseniospora* ZIKES specie con aschi portanti due spore.

(1) – H. WILL – *Anleitung zur biologischen Untersuchung u. Begutachtung von Bierwürze, Bier u. Brauwasser, zur Betriebskontrolle sorwie zur Hefereinzucht*, Monaco e Berlino, 1909.

(2) – H. ZIKES – C. f. B., II Abt., 1911.

(3) – A. KLOECKER – C. f. B., II Abt., **35**, 1912. – C. R. des Trav. du Labor. de Carlsberg. v. **10**, 1413. – C. f. B., II Abt. **43**, 1915. – *Die Gärungsorganismen.* 3 Aufl., Berlino, 1924.

(4) – H. WILLE – C. f. B., II Abt., **44**, 1916. – Ebenda, **46**, 1916.

(5) – A. JANKE – C. f. B., II Abt., **59**, 1933 e **76**, 1928.

(6) – H. KUFFERATH – Ann. de la Distillerie, **27**, 1928 1929.

La Stelling-Dekker ([1]) limita molto il genere *Hanseniospora* riportandovi le sole specie formanti spore a forma prima rotonda poi a cappello, la qual cosa, avverte, non risulta sempre ben chiara.

Melliger ([2]) descrisse una forma di *Hanseniospora* che Lodder ([3]), studiandola comparativamente alle altre forme note esistenti nel " Centraalbureau voor Schimmelcultures„ – *H. Valbyesis* e *H. Guilliermondii* – ritenne nuova e denominò *Hanseniospora Melligeri.*

In un recente lavoro Niehaus ([4]) dimostra come numerose razze di fermenti apiculati formano spore: una, di solito, raramente due. Esse sono rotonde o costantemente ellissoidali e germinano senza precedente copulazione. Ritiene che gli stipiti da lui isolati non possano rientrare nel genere *Saccharomycodes* per la mancanza di copulazione, nè nel genere *Hanseniospora* discostandosi per la forma delle spore e per le modalità di germinazione di queste. Propone per ciò un nuovo genere che denomina *Kloeckerospora* e vi ascrive due nuove specie: *Kl. osmophila* e *Kl. uvarum*, avvertendo che in questo genere probabilmente rientra anche *Hanseniospora apiculata.*

Da questa rapida rassegna appare sufficientemente delineato il quadro sistematico dei fermenti apiculati.

Da una parte abbiamo gli apiculati asporigeni, descritti, accettando l' ultima dizione di Jank, sotto il genere *Kloeckera* (*Pseudosacch.* A. A. (Klöcker), *Hansenia* Zikes). Dall'altra, gli apiculati sporigeni che possono, stando a Niehaus, comprendersi nei due generi di *Hanseniospora* e *Kloeckeraspora* secondo chè formino, rispettivamente, spore a cappello o spore rotonde: in quest' ultimo caso il numero delle spore sarebbe generalmente uno, al massimo due.

Ciò premesso la nostra specie rientra nel gruppo degli apiculati sporigeni; per la forma rotondeggiante delle spore, entro il genere *Kloeckeraspora.*

Niehaus, che è l' Autore del genere, descrive in esso, come è stato accennato, due specie: *Kl. uvarun* e *Kl. osmophila*, ritenendo che come *Kloeckeraspora* dovesse essere considerata anche l' *Hanseniospora apiculata* di Lindner. Questa infatti forma spore rotondeg-

([1]) – N. M. Stelling – Dekker – op. cit.
([2]) – R. Melliger – Thèse n. 893 – Gènève, 1931.
([3]) – J. Lodder – op. cit.
([4]) – J. G. Niehaus – C. f. B., II Abt., **86**, 1932 – C. f. B., II Abt. **87**, 1932.

gianti e non a cappello, sì che senz'altro, a nostro giudizio, può opinarsi secondo NIEHAUS. Tre, dunque, sono le forme apiculate note formanti spore rotonde:

*Kloeckeraspora apiculata* (LINDNER) NIEHAUS
– *uvarum* NIEHAUS
– *osmophila* NIEHAUS

Stabilito il genere, rimane ora a vedere a quale delle tre specie più si avvicini la nostra. Escluso si tratti di *Kl. osmophila*, in quanto per la nostra non è stata notata (v. più avanti) alcuna particolare notevole resistenza alle elevate concentrazioni zuccherine; e di *Kl. apiculata*, in quanto, forma una sola spora per asco; il confronto si limita a *Kl. uvarum*.

Di questa NIEHAUS distingue un gruppo *A*, a cui riferisce le forme misuranti μ 6 – 8 × 3 – 4,5; e un gruppo *B*, con forme di μ 12 – 15 × 3 – 3,5. Il nostro stipite dovrebbe quindi riferirsi per i caratteri biometrici al primo gruppo. Circa il potere fermentativo *Kl. uvarum* fermenta, producendo alcool, saccarosio che è capace di invertire, maltosio, lattosio, galattosio, glucosio, fruttosio. Capace di fermentare questi zuccheri si è dimostrata anche la specie da noi isolata.

Per cui pensiamo che essa possa riferirsi a *Kloeckeraspora uvarum* intesa questa specie in senso collettivo, in quanto vi si dimostrano appartenere numerose razze, come già NIEHUAS ha messo in evidenza.

5 – ORIGINE: da frutti di Kaki.

## Caratteri colturali

*Colonie su agar-mosto* e *agar-fagiuoli*: superficiali, piccole, isolate, opache, bianche, poltacee, circolari, piatte, con orlo continuo, stuttura finemente granulosa.

*Colonie su gelatina*: analoghe alle precedenti; più piccole.

*Strisci su agar-mosto e agar-fagiuoli*: patina estesa, continua, opaca, bianca, poltacea, liscia.

*Strisci su agar-peptone e agar-Gorodkowa:* sviluppo di patine come negli altri strisci, ma più limitate.

*Colture in brodo fagiuoli saccarato*: sviluppa intorbidando leg-

germente il liquido che dopo chiarifica; deposito leggero da prima, indi piuttosto abbondante; coperta assente.

*Infissioni in gelatina*: sviluppo in superficie, leggero lungo il fittone; non fluidificazione.

*Colture su patata e carota*: sviluppo piuttosto abbondante di patina avente i caratteri degli strisci.

*Colture in latte*: sviluppa coagulando, non peptonizzando.

*Colonie giganti su gelatina e agar-mosto:* grandi, rilevate non molto, non crateriformi, poltacee, bianche, opache, leggermente radiate, con orlo lobato e a strati concentrici.

## Caratteri morfologici

Su agar-fagiuoli e agar-mosto, cellule isolate, rotonde o sub-rotonde, con plasma omogeneo e una o raramente due grosse gocce di grasso.

I caratteri biometrici, dedotti come al solito da 200 misurazioni, risultarono essere i seguenti:

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| diam. | μ | : | 2,47 | 2,97 | 3,30 | 3,65 | 4,12 | 4,95 | 5,78 | 6,60 |
| | fr. | : | 8 | 19 | 67 | 32 | 20 | 11 | 16 | 27 |

Le medie dimensioni risultarono adunque di μ 3,50 con limiti compresi tra μ 2,47-4,95. Forme di dimensioni maggiori, qualificabili come cellule giganti, arrivano fino a μ 6,60.

Tali dimensioni si mantengono, anche come frequenza, pressochè costanti nei diversi substrati é con l'invecchiarsi delle colture.

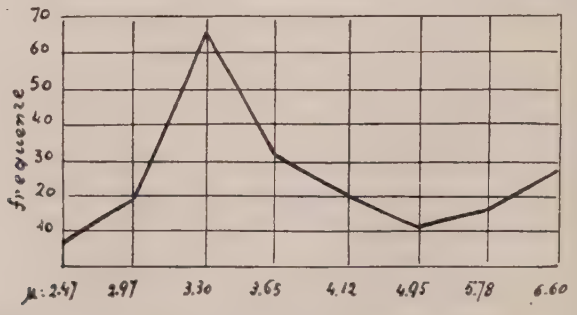



Fig. 8 – Diagramma delle deviazioni biometriche della forma V.

Ciò che invece cambia notevolmente è la forma delle cellule giganti attorno alle quali si vedono saldate numerose piccole gemmazioni. Il fatto è già stato notato da KRUMBHOLZ in alcuni *Zygosaccharomyces* da lui studiati ed anche da SACCHETTI nel suo *Zygosacch.*

Fig. 9 – Cellule vegetative.

*felsineus* (1); inoltre della CHARBOSKI per *Torula* (*Torulopsis*) *botryoidea* (2), mentre CIFERRI e ASHFORD (3) qualche cosa di analogo, pur in forma ridotta, avrebbero osservato nel loro *Blastodendrion intermedium* isolato dall'uomo. (4)

Altre forme particolari non furono notate e mancano formazioni pseudomiceliche.

Il potere sporigeno fu ricercato coltivando la forma in agar-Gorodkowa e su blocchetti di gesso: in nessun caso si formano spore.

## Caratteri biochimici

Provato il comportamento di fronte agli zuccheri, fu accertata l'inversione del saccarosio e la fermentazione del glucosio, fruttosio, lattosio, mannosio ed anche – molto lentamente – maltosio, arabinosio, galattosio; non del raffinosio.

La specie dimostrò assimilare i precedenti zuccheri, leggermente la mannite e la glicerina; l'azoto proteico e amidico; non quello dei sali ammonici e dei nitrati.

(1) – M. SACCHETTI – Archiv. f. Mitkrobiologie, **3**, *486*, 1932.

(2) – G. CHARBOSKI – Thèse de l'Univ. de Gènève. 9° ser., 12 fasc., 1918.

(3) – R. CIFERRI e B. K. ASHFORD – Porto Ricco Journ. Publ. Health Trop. Med. *5*, 1929.

— – Archiv f. Protistenkunde, **71**, *405*, 1930.

(4) – Il fatto è più frequente di quello forse che non risulti. E' anche figurato e sommariamente descritto in M. LANGERON e R.-V. TALICE: Ann. d. Parasit. hum. et comparée. 1932.

## Riferimento sistematico

La mancanza del potere sporigeno fa rientrare la forma in parola nella famiglia delle *Torulopsidaceae*, più precisamente nel gen. *Torulopsis*.

Rimandando, per la precisazione della specie, a coloro che si sono - come CIFERRI - sistematicamente occupati di tal genere di funghi, indichiamo provvisoriamente la nostra forma come *Torulopsis A*.

**6 - ORIGINE: da frutti di Susino**

## Caratteri colturali

*Colonie su agar-fagiuoli e agar-mosto:* superficiali, grandette, isolate, opache, bianche, poltacee, circolari, piatte, ad orlo continuo o leggermente lobato, struttura finemente granulosa.

*Colonie su gelatina:* come le precedenti; sviluppo però più lento.

*Strisci su agar-fagiuoli e agar-mosto:* patina estesa, bianca, liscia, opaca, poltacea, con orli lobati.

*Strisci su agar-peptone e agar-Gorodkowa:* sviluppo limitato di patina avente caratteri analoghi a quelli precedentemente fissati.

*Colture in brodo fagiuoli saccarato:* liquido pochissimo torbido: sedimento fioccoso in fondo, assenza di coperta in superficie.

*Infissioni in gelatina:* sviluppo in superficie, leggero lungo il fittone: non fluidificazione.

*Colture su patata e carota:* sviluppo di patina avente i caratteri degli strisci.

*Colture in latte:* sviluppa coagulando, non peptonizzando.

*Colonie giganti su gelatina e agar-mosto:* circolari, piatte, non molto grandi, opache, poltacee, biancastre, con bordi lobati.

## Caratteri morfologici

Su agar-fagiuoli e agar-mosto: cellule isolate, rotonde, con plasma omogeneo o finemente granuloso, racchiudente una grossa goccia di grasso.

I caratteri biometrici risultarono essere:

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| diam. | μ: | 1,65 | 1,98 | 2,47 | 3,30 | 3,65 | 5,28 | 6,60 |
| | fr.: | 10 | 14 | 12 | 70 | 50 | 9 | 10 |

Misurerebbe quindi μ 3,30 di diametro in media e in prevalenza, con forme però notevolmente più piccole e più grandi.

In agar-Gorodkowa come su blocchi di gesso le dimensioni si riducono di un poco, e nelle vecchie colture le cellule facilmente si trovano riunite in ammassi; mancano peraltro formazioni pseudomiceliche o filamentose mentre si rinvengono cellule plurigemmate analoghe a quelle descritte per lo stipite precedente.

Il potere sporigeno fu ricercato coltivando la forma in agar-Gorodkowa e su blocchetti di gesso: in nessun caso si formarono spore.

### Caratteri biochimici

Non inverte saccarosio; non fermenta maltosio, mannosio e raffinosio; fermenta glucosio, lattosio, lentamente galattosio, levulosio e arabinosio.

L' assimilazione degli idrati di carbonio e delle sostanze azotate avviene come in 5.

### Riferimento sistematico

Come la forma precedente essa è riferibile al gen. *Torulopsis* Con la forma precedente ha in comune i caratteri morfologici ed anche colturali, ma se ne discosta per la mancata capacità di invertire il saccarosio e di fermentare alcuni zuccheri.

Trattasi, probabilmente, di una forma non molto lontana dalla precedente. Da questa crediamo, ciò non di meno, di doverla tenere distinta, e la indichiamo come *Torulopsis* B.

7 – ORIGINE: da frutti di Arancio.

### Caratteri colturali

*Colonie su agar-fagiuoli e agar-mosto:* superficiali, piccole, isolate, opache, bianchiccie, poltacee, circolari, piatte, continue, a struttura finemente granulosa.

*Colonie su gelatina:* come le precedenti, più piccole.

*Strisci su agar-fagiuoli e agar-mosto*: patina superficiale, estesa, continua, bianca, liscia, opaca, poltacea.

*Strisci su agar-peptone e agar-Garodkowa:* come sopra, ma sviluppo meno evidente.

*Colture in brodo fagiuoli saccarato:* liquido poco torbido, scarso sedimento al fondo, coperta assente.

*Infissioni in gelatina:* leggero sviluppo in superficie; non fluidificazione.

*Colture su patata* e *carota:* patine bianco-gialliccie come negli strisci.

*Colture in latte:* sviluppa coagulando, non peptonizzando.

*Colonie giganti su gelatina e agar mosto:* grandi, poltacee, bianchiccie, opache, circolari, piatte, leggermente raggiate, ad orlo lobato.

## Caratteri morfologici

Su agar-fagiuoli e agar mosto: cellule isolate, limoniformi o, più raramente, ellittiche, con plasma finemente granuloso, e una o due gocce di grasso e grande vacuolo.

I caratteri biometrici risultarono;

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| larghezza | μ: | 1,32 | 1,65 | 1,98 | 2,47 | 3,30 |
| | fr.: | 24 | *96* | 52 | 20 | 8 |
| lunghezza | μ: | 4,95 | 5,28 | 5,78 | 6,10 | 6,60 |
| | fr.: | 13 | 37 | *74* | 56 | 20 |

Misurerebbe quindi μ 1,32 - 3,30 × 4,95 - 6,60 e, con maggiore frequenza, μ 1,65 × 5,78.

Con l'invecchiamento delle colture (ed anche su blocchi di gesso dove la patina diventa gialliccia) le cellule, pur mantenendosi iso-

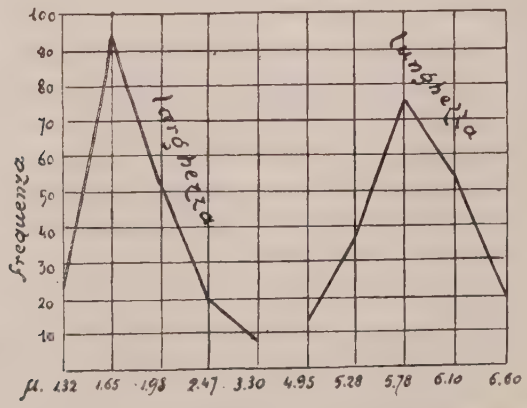



Fig. 11 - Diagramma delle deviazioni biometriche della forma VII

late, si rinvengono con una certa frequenza ellittiche o subsferiche e, specie queste, leggermente più grandi.

Fig. 12 – Cellule vegetative

Mai si rinvengono complessi aggruppamenti morfologici nè, mai, produzioni pseudomiceliche.

Il potere sporigeno fu ricercato coltivando la forma in agar-Gorodkowa e su blocchetti di gesso: in nessun caso si formarono spore.

## Caratteri biochimici

Inverte il saccarosio; fermenta levulosio, glucosio, lattosio, raffinosio, più lentamente galattosio, maltosio, arabinosio; non il mannosio.

Assimila saccarosio, levulosio, destrosio, lattosio, raffinosio, galattosio, maltosio, arabinosio, mannosio; non la mannite, non la glicerina. Assimila l' azoto proteico, scarsamente l' amidico, non l' azoto dei sali ammonici e dei nitrati.

## Riferimento sistematico

La forma tipicamente apiculata, insieme al carattere asporigeno, fa porre lo stipite in esame entro il gen. *Kloeckera (Pseudosaccharomyces* Auct. (Klöcker), *Hansenia,* Zikes) (1).

Kloecker, nel 1912, (2) descrisse ben 16 forme di apiculati asporigeni comprendendovi il vecchio *Pseudosacch. apiculatus;* quindi

(1) – Per la nomenclatura di questo genere veggasi quanto è scritto a proposito dello stipite n. 4.

(2) – A. Kloecker – C. f. B., II Abt. 1912.

De' Rossi ne descriveva due nuove isolate da uva e da mosti in fermentazione (1) e Ciferri una isolata da piante di Cacao (2) e un'altra dall' epicarpio e dalla polpa di frutti marcescenti di Cacao (3).

Riuniamo nel seguente prospetto le caratteristiche morfologiche e fisiologiche di queste diverse specie:

| | Specie (*) | dimensioni μ — | potere fermentativo per: saccarosio | maltosio | des trosio | levulosio | mannosio | lattosio | galattosio | alcoolasi | fluidificaz. di gelatina |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Pseud. apiculatus | 5–10 | — | — | + | + | + | — | — | + | + |
| 2 | – austriacus | 4–6 | — | — | + | + | + | — | — | + | + |
| 3 | – africanus | 7–12 | — | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 4 | – corticis | 6–15 | — | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 5 | – Mülleri | 4–6 | — | — | + | + | + | — | — | + | + |
| 6 | – Lindneri | 9–5 | — | — | + | + | + | — | — | + | + |
| 7 | – germanicus | 5–8 | — | — | + | + | + | — | — | + | + |
| 8 | – Jenseni | 2–5 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 9 | – javanicus | 6–12 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 10 | – malaianus | 5–12 | + | + | + | + | + | — | — | + | — |
| 11 | – Lafari | 5–10 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 12 | – Willi | 4–10 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 13 | – Antillarum | 5–12 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 14 | – occidentalis | 6–10 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 15 | – santacruzensis | 6–10 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 16 | – indicus | 3–7 | + | + | + | + | + | — | — | + | + |
| 17 | – apiculatus | 3.8-5×1.5-3 | | — | + | + | | — | — | + | + |
| 18 | – magnus | 4.8-9.6x2.7-4.8 | | — | + | + | | | | + | — |
| 19 | – dominigensis | 6-12×4-8 | — | — | + | + | — | — | — | ? | — |
| 20 | – cacaoicola | 3×6 | + | — | + | — | — | — | — | ? | ? |
| 21 | – sp. | 1.4-3-3×5-6.6 | + | + | + | + | + | + | + | + | — |

(*) Le specie 1-16 furono descritte da Kloecker; le 17-18 da De' Rossi le 19-20 da Ciferri; la 21 è quella in istudio.

(1) – G. De' Rossi – Staz. Sp. Agr. Ital. 1920.
(2) – R. Ciferri – *Studies on Cacao*. The Journal of the Dep. of Agric. of Porto Rico. Vol. XV, 1931.
(3) – R. Ciferri – op. cit.

Con De' Rossi bisogna riconoscere che, sulla scorta dei pochi caratteri fissati, la creazione da parte di Kloecker di sedici specie appare non giustificata, mentre per contro risulterebbe assai evidente la distinzione in due gruppi comprendenti, uno le forme microcellulari, l' altro le macrocellulari.

A questi gruppi, secondo noi, si potrebbe dar valore di specie e, per mantenere le specie come tali descritte, attribuire loro il valore di forme.

La nostra quindi, seguendo tale criterio, rientrerebbe nel primo gruppo e costituirebbe una forma assai caratteristica per fermentare lattosio e galattosio, contrariamente a tutte le altre, e per non fluidificare la gelatina; anche questo, carattere proprio alla maggior parte degli altri apiculati asporigeni.

Con altro criterio dovremmo considerarla distinta dalle altre specie. Ad ogni modo, almeno momentaneamente ed in attesa di una revisione generica, la indichiamo con il nome di *Kloeckera apiculata f. aurantii.*

* * *

A parte vogliamo riferire su di alcune particolari esperienze eseguite con i ceppi in parola rispetto alla fermentazione alcoolica e al comportamento in liquidi zuccherini ad elevata concentrazione.

Per quanto si riferisce al primo gruppo di prove coltivammo i lieviti isolati dai frutti di giuggiolo, ciliegio, pesco, susino, arancio, in infuso di fagiuoli addizionato di glucosio al 10% per 10 giorni a temperatura di 24°C.

Dopo 10 giorni l' attacco dello zucchero da parte dei lieviti poteva ritenersi avvenuto; quindi distillammo l' alcool prodottosi ottenendo i dati di cui alla seguente tabella, nella quale sono anche riportate le combinazioni funzionali dei diversi fermenti.

Per quanto si riferisce al rendimento alcoolico individuale risultarono più attivi i lieviti isolati da ciliegie *(Hansenula fermentans)*, arancio *(Kloeckera apiculata f. aurantii)*, giuggiolo *(Sacch. ellipsoideus*, var. ?); meno gli altri.

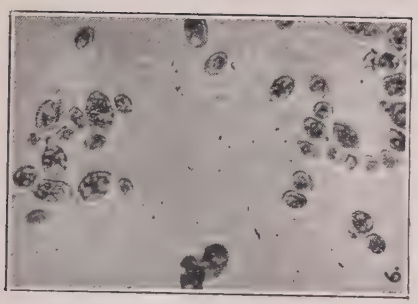
Per quello che si riferisce al rendimento alcoolico delle stesse forme in combinazione reciproca, v'è da notare come, tale unio-

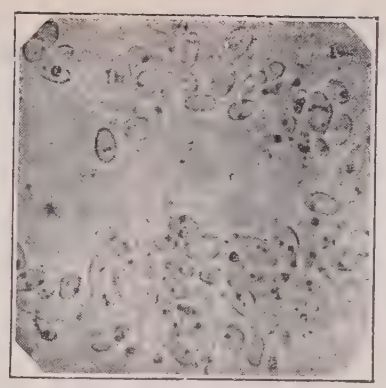
| | | 1 *Sacch. ellipsoideus* (giuggiolo) | 2 *Hans. fermentas* (ciliegie) | 3 *Kloeck. uvarum* (pesche) | 4 *Torulopsis sp.* (susine) | 5 *Kl. ap.-aurantii* (arancio) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. *Sacch. ellipsoideus* (giuggiolo) | 3,55 | — | 4,09 | 4,09 | 2,72 | 3,46 |
| 2. *Hans. fermentans* (ciliegie) | 3,64 | 4,09 | — | 3,92 | 4,52 | 4,22 |
| 3. *Kloeck. uvarum* (pesche) | 2,96 | 4,09 | 3,92 | — | 2,96 | 3,18 |
| 4. *Torulopsis sp.* (susine) | 1,94 | 2,72 | 4,52 | 2,96 | — | 3,64 |
| 5. *Kl. ap. aurantii* (arancio) | 3,64 | 3,46 | 4,22 | 3,18 | 3,64 | — |

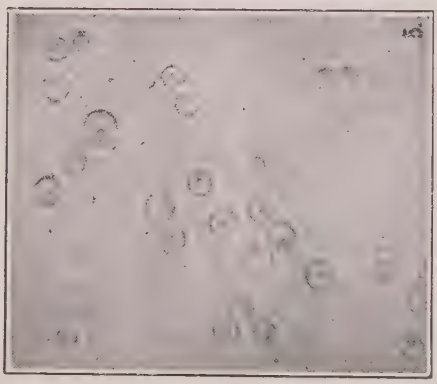
ne, abbia nella generalità dei casi stimolato l'attività singola determinando un rendimento complessivo maggiore di quello individuale. È il caso, per es.., assai evidente, di *H. fermentans* + *Torulopsis sp.*, di *H. fermentans* + *Kloeckera apiculata, f.*, di *H. fermentans* + *Sacc. ellipsoideus v.*, ecc. Accanto a tali azioni stimolanti non sono mancate azioni antagonistiche e per le quali il rendimento complessivo è stato minore di quello individuale. Ciò risulta chiaro, ad es., nelle combinazioni *Kloeckera apiculata* + *Sacch. ellipsoideus; Torulopsis sp.* + *Sacch. ellipsoideus; Kloeckera apiculata* + *Kloeckerasp. uvarum.*

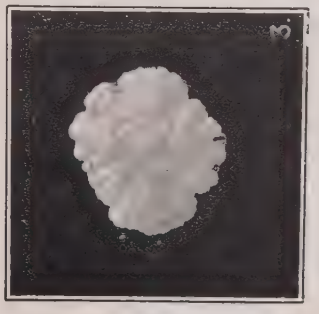
Tali azioni sinergetiche, stimolanti o antagonistiche, portantisi su funzioni specifiche o d'insieme, o semplicemente sull'attività vegetativa, sono del resto abbastanza ben note (1) in molti gruppi di organismi ed anche, in parte, nei Blastomiceti. In questi, specie nei Saccaromiceti, prevalgono azioni di stimolazione (2) sebbene non siano mancate segnalazioni relative ad azioni antibiotiche (3).

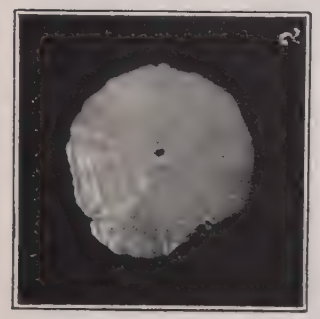
(1) – G. Papacostas e J. Gaiè – Les associations Microbiennes, Paris, 1928.
(2) – V. specialmente: A. J. J. Vandevelde – On symbiotic life of yeast races (8° Congr. intern. di Chimica applicata) Washington 1912; V. XIX, p. 191-202.
(3) – V. ancora: A. J. J. Vandevelde – op. cit. e inoltre:











Le poche esperienze riportate avvalorano ancora il fatto generale e pongono altresì in rilievo come nell'industria delle fermentazioni le colture miste diano risultati migliori di quelli ottenuti dalle colture pure.

Poichè in questi ultimi tempi l'elenco dei blastomiceti zucchero-tolleranti o, come si sono voluti chiamare, " osmofili „ ([1]), è notevolmente aumentato ([2]), abbiamo voluto vedere se, e fino a qual punto, le specie da noi isolate si dimostrassero capaci di tollerare elevate concentrazioni zuccherine. All'uopo abbiamo coltivato le singole specie in soluzioni zuccherine di differente concentrazione fino ad arrivare a quelle massime contenenti 100 gr. di zucchero in 100 cc. di soluzione (infuso di fagiuoli).

I risultati avuti furono i seguenti:

| | soluz. contenenti zucchero, %: | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 65 | 70 | 75 | 80 | 85 | 90 | 95 | 100 |
| 1. *Sacch. ellipsoideus* (giuggiolo) | + | + | + | + | – | – | – | – |
| 2. *Hans. fermentans* (ciliegie) | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 3. *Hans. fermentans* (dattero) | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 4. *Kloeck. uvarum* (pesche) | + | + | – | – | – | – | – | – |
| 5. *Torulopsis A.* (kaki) | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 6. *Torulopsis B.* (susine) | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 7. *Kl. apiculata f.* (arancio) | + | + | + | + | + | + | + | + |

D'Arsonval e Charrin – Soc. de Biologie, 1893. – E Hansen – C. R. du Labor. Carlsb. v. I, p. 59, 1881. – Mueller-Thurgau – Koch's Jahresber., v. VI, p. 182, 1895.

([1]) – A. A. Richter – Mycolog. Centralbl. **I**, 67, 1931.

([2]) – per la bibliografia relativa veggasi:

M. Sacchetti – op. cit. e inoltre e sopratutto:

K. Kroemer e G. Krumbholz – Arch. f. Mikrobiol. **2**, *352*, 1931.

G. Krumbholz – ebendaselbst, **2**, *411*, *601*, 1931.

In genere, tutte le forme cimentate, si sono dimostrate abbastanza tolleranti di fronte alle elevate concentrazioni zuccherine. Soltanto per *Kloeckeraspora uvarum* e *Sacch. ellipsoideus* lo sviluppo si dimostrò ostacolato, rispettivamente, per concentrazioni superiori al 70 e 80% . Negli altri casi lo sviluppo non mancò anche in soluzioni a titolo osmotico elevatissimo; ed anzi vi furono specie, come *Hansenula fermentans*, capaci non solo di svilupparsi, ma di indurre nei liquidi così concentrati evidente fermentazione.

Le specie sperimentate si aggiungono all'elenco di quelle il cui comportamento osmofilo è già accertato: e ci lasciano pensare che, contrariamente a quanto, dall'esame della bibliografia, si potrebbe ritenere, i blastomiceti osmofili non appartengano nella maggior parte al gen. *Zygosaccharomyces*, ma che si rinvengano più o meno in tutti gli altri generi di Saccaromiceti ed anche nei Blastomiceti asporigeni.

## RIASSUNTO

Gli AA. descrivono e determinano sistematicamente sette specie di fermenti isolati da frutti di giuggiolo, ciliegio, dattero, pesco, kaki, susino, arancio. Ne sono anche studiate le proprietà fermentative, isolatamente ed in sinergesi, non che le attitudini osmofile.

Pisa, Laboratorio di Biologia Vegetale
del R. Istituto Superiore Agrario
Aprile 1933 - XI

*(Presentata il 17 Giugno 1933 - XI)*

## SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

1. – Strisci su agar fagiuoli di *Torulopsis B (a), Kl. apiculata (b), Hans. fermentans* (ciliegie) *(c), Torulopsis A (d), Hans. fermentans* (dattero) *(e), Kloeckerasp. uvarum (f).*

2. – Colonia gigante su agar-mosto di *Hansenula fermentans.*

3. – id. di *Torulopsis A.*

4. – id. di *Torulopsis B.*

5. – Fotogramma di giovani cellule di *Torulopsis A.*

6. – 7. – id. di cellule (in 7 sporificate in parte) di *Kloeckeraspora uvarum.*